

Aus dem Ludwig-Aschoff-Haus, dem Pathologischen Institut
der Albert-Ludwigs-Universität Freiburg im Breisgau

Direktor: Prof. Dr. H.U. Zollinger

AUTORADIOGRAPHISCHE UNTERSUCHUNGEN MIT H³-THYMIDIN (H³-TDR)
ÜBER DIE WIRKUNG VON 5-IODODESOXYURIDIN (IUDR) UND RÖNTGEN-
STRAHLEN AUF DIE ZELLNEUBILDUNG IM DUODENUM DER RATTE

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Medizinischen Doktorwürde

einer

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Albert-Ludwigs-Universität zu Freiburg i.Br.

vorgelegt von

Wolf-Dieter Strohm

aus Danzig

1966

Aus dem Ludwig-Aschoff-Haus, dem Pathologischen Institut
der Albert-Ludwigs-Universität Freiburg im Breisgau

Direktor: Prof. Dr. H.U. Zollinger

AUTORADIOGRAPHISCHE UNTERSUCHUNGEN MIT H³-THYMIDIN (H³-TDR)
ÜBER DIE WIRKUNG VON 5-IODODESOXYURIDIN (IUDR) UND RÖNTGEN-
STRAHLEN AUF DIE ZELLNEUBILDUNG IM DUODENUM DER RATTE

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Medizinischen Doktorwürde

einer

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Albert-Ludwigs-Universität zu Freiburg i.Br.

vorgelegt von

Wolf-Dieter Strohm

aus Danzig

1966



Dekan: Prof. Dr. H.U. Zollinger

Referent: Prof. Dr. W. Oehlert

Inhaltsverzeichnis

1. Vorbemerkungen

- 1.1 Radiosensibilisierung durch nicht-zytostatische Stoffe
- 1.2 Radiosensibilisierung durch zytostatische Stoffe
- 1.3 Radiosensibilisierung durch Thymidinanaloge
- 1.4 Methoden zur Untersuchung der Radiosensibilisierung

2. Methodische Einzelheiten

3. Ergebnisse

3.1 Histologische Untersuchungen

- 3.11 Untersuchungen der Krypten nach Bestrahlung
- 3.12 Untersuchungen der Krypten nach IUDR-Injektion
- 3.13 Untersuchungen der Krypten nach der Kombinationsbehandlung mit IUDR und Röntgenstrahlen

3.2 Quantitative Untersuchungen

- 3.21 Methode
- 3.22 Gesamtzellzahl
- 3.23 Häufigkeitsverteilungen
- 3.24 Abhängigkeit des Markierungsindex und des Mitoseindex
- 3.25 Atypische Mitosen

4. Diskussion

4.1 Bemerkungen zu den histologischen Veränderungen

- 4.11 Vergleich der Ergebnisse
- 4.12 Interpretation der Ergebnisse

4.2 Bemerkungen zu den Veränderungen des Markierungs- indexes

4.21 Strahleneingriff in die DNS-Synthese-Phase

4.22 Strahleneingriff in G1

4.23 Markierungsindex in anderen Organen und in Kulturen

4.24 Schlußfolgerung

4.3 Bemerkungen zu den Mitosestörungen

4.31 Mitoseindex

4.32 Atypische Mitosen

4.4 Bemerkungen zur Kombinationswirkung von IUDR und Röntgenstrahlen

4.41 Pharmakologische Wirkungen von IUDR

4.42 IUDR-Einbau in die DNS des Darms

4.43 Radiosensibilisierung durch IUDR

Zusammenfassung

Literaturverzeichnis

Lebenslauf

1. Vorbemerkungen

Die Empfindlichkeit tierischer und menschlicher Organe gegenüber ionisierenden Strahlen ist sehr verschieden und hängt von den physiologischen Bedingungen der einzelnen Organe ab (10, 104, 126). Sie kann auf chemischem Wege zu einem gewissen Grade beeinflusst werden. Wird die Strahlenempfindlichkeit von Zellen durch die Anwendung eines bestimmten Stoffes erhöht, so kann man von Radiosensibilisierung sprechen. Dieser Begriff hat sich in der Literatur gut eingebürgert. Die verschiedenen Autoren verstehen aber nicht immer dasgleiche darunter.

1.1 Radiosensibilisierung durch nicht-zytostatische Stoffe

Bane et al. (6) verstehen unter radiosensibilisierenden Stoffen solche wie Sauerstoff, Synkavit, Glucose usw.. Andere Autoren haben zahlreiche Experimente über Radiosensibilisierung mit dieser Gruppe der nicht-zytostatisch wirkenden Stoffe gemacht (62, 33, 84). Vor allem soll eine Erhöhung der Sauerstoffkonzentration im Gewebe eine Zunahme der Strahlenempfindlichkeit bewirken (27, 75, 113). Radiosensibilisierend scheinen auch die Cocarboxylase und Alanin zu sein (21). Andere Autoren berichten von 3-Azaguanin, Testosteron, Desoxypyridoxin, 6-Aminonicotinamid radiosensibilisierende Eigenschaften (59). Die Monojodessigsäure erhöht die Radiosensibilität (63), ebenso die Pyrimidinderivate Methacyl und Pentoxyl (70, 97). Das Cäsium-Bosinat soll klinisch radiosensibilisierende Wirkungen haben (3). Im übrigen sei auf die ausführlichen Zusammen-

fassungen von Bane et al. (6) und Maisin (75) hingewiesen. Die Wirkung der erhöhten Sauerstoffkonzentration, die Maisin (75) als "sicherste und wirksamste, um die Radiosensibilität zu erhöhen", herausstellt, wird von Bagshaw (5) als Strahlenverstärkung (augmentation) interpretiert, weil hierbei die Wirksamkeit der ionisierenden Strahlen durch einen Stoff, der den Überträgermechanismus der radiochemischen Energie zum Zeitpunkt der Bestrahlung verstärkt, verändert wird.

1.2 Radiosensibilisierung durch zytostatische Stoffe

Unter Radiosensibilisierung versteht Bagshaw (5) die chemische Veränderung des Strahlenangriffspunktes z. B. durch den Einbau von Purin- und Pyrimidinanalogen in die Desoxyribonucleinsäure (DNS) der Zelle. Andere Chemotherapeutica wie Chloramphenicol, Methotrexat und Fluoruracil (FU) sollen nach Bagshaw (5) zusammen mit ionisierenden Strahlen eine Potenzierung ergeben. Harbers (45) wiederum schreibt auch dem FU eine radiosensibilisierende Wirkung zu, wenn auch eine Abgrenzung gegen eine additive Wirkung von Pharmakon und Strahlung nicht immer einfach möglich scheint (46). Zu einer additiven Wirkung von Chemotherapeutica und ionisierenden Strahlen zählt Bagshaw (5) Actinomycin D und die alkylierenden Substanzen. Wahrscheinlich läßt sich eine scharfe Trennung der verschiedenen Wirkungsweisen nicht immer ziehen.

Maisin (74) spricht verallgemeinernd immer dann von Radio-sensibilisierung, wenn die Schädigung der Zellen durch die synergistische Wirkung von Chemotherapeutica und ionisierenden Strahlen hervorgerufen wird. Er zeigt im weiteren Sinne radio-sensibilisierende Eigenschaften von Zytostatika wie Endoxan, Trenimon, TEM, FU usw.. Dem folgte eine weitere zusammenfassende Darstellung über neuere Untersuchungen mit Antimetaboliten (75). Auch Bane et al. (6) betonten schon 1957 die Verstärkung des Strahlenschadens durch Zytostatika: Colchicin, Stickstofflost, Stickstoff-Oxydlost (107), TEM usw.. Andere Autoren (117) haben jedoch mit Amethopterin, 6-Mercaptopurin u.a. weniger überzeugende, experimentelle Kombinationsergebnisse erzielen können. Auch Colchicin hat anscheinend keinen nennenswerten Einfluß auf die Strahlenschädigung (14). Recht gelungen scheint die Wahl einer Kombination von 6-Mercaptopurin, 6-Aminonicotinsäure und Röntgenstrahlen (73). Eine Verstärkung durch die Kombination von Actinomycin D und Röntgenstrahlen konnte nur dann gezeigt werden, wenn beider Therapiearten genügend hoch dosiert waren (109). Eine Potenzierung durch Actinomycin D und Röntgenstrahlen ist beschrieben worden (2). Der Wirkungsmechanismus dieser beiden Noxen in Kombination konnte aufgeklärt werden (45). Eine Addition der Wirkung von Kobaltstrahlen und Trenimon wurde an Zellkulturen nachgewiesen (95, 60). Megaphen verstärkt die Strahlenwirkung von Mäuseaszites-Tumoren (94). Beschrieben wurde auch eine Summation bei der Kombination von "insuffizienter Strahlen-

behandlung oder Chemotherapie" (Endoxan, Trenimon) an transplantablen Tumoren (103). Die Kombination von FU mit Röntgenstrahlen wurde als Therapie zum Teil mit Erfolg in die Klinik eingeführt (43, 67, 34, 36, 47, 69), wenn auch die Potenzierung mit stärkeren Nebenwirkungen verbunden ist (91). Weitere Zytostatika, die in der Klinik als radiosensibilisierende Stoffe im weiteren Sinn mit Erfolg eingesetzt wurden, sind Methotrexat (5, 38) und Meturedopa (119).

1.3 Radiosensibilisierung durch Thymidinanalogue

Iododesoxyuridin (IUDR) und Bromodesoxyuridin haben als radiosensibilisierende Stoffe eine besondere Bedeutung gewonnen (28, 8, 9, 30, 31, 32, 33, 4, 5, 56, 116, 25, 85, 114, 115, 52). IUDR und BUDR unterscheiden sich formal von Thymidin (TDR) nur durch den Austausch der Methylgruppe mit einem Jod- bzw. Bromatom an Stellung 5 des Pyrimidinrings (101) (Abb. 1). Vergleichende Untersuchungen über die Radiosensi-

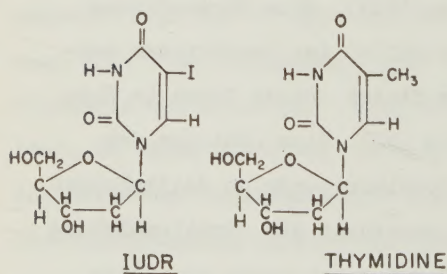


Abb. 1. IUDR und Thymidin unterscheiden sich nur in Stellung 5 des Pyrimidinrings. Aus Calabresi et al. (18).

bilisierung menschlicher Zellkulturen durch solche Halogen-

analoge ergaben, daß IUDR einen stärker sensibilisierenden Effekt auf die Zellen ausübt als BUDR (30, 33). Diese Ansicht wurde durch in-vivo-Versuche bestätigt (8). Das Chlorodesoxyuridin beeinflusst die Strahlenwirkung weniger stark (30, 9). Erstaunlicher Weise gleichen die radiosensibilisierenden Eigenschaften von Iododesoxycytidin (ICDR) und Bromodesoxycytidin (BCDR) denen von IUDR bzw. BUDR (33, 9). Das Fluorodesoxyuridin (FUDR) führt zu einer additiven Toxizität mit Röntgenstrahlen in Zellkulturen (73). Wahrscheinlich ist der Wirkungsmechanismus von FUDR ein anderer als die Radiosensibilisierung durch IUDR und ICDR (63).

1.4 Methoden zur Untersuchung der Radiosensibilisierung

Die ersten radiosensibilisierenden Effekte mit IUDR und BUDR wurden an menschlichen Zellkulturen und Hamsterzellkulturen studiert (28, 30, 31, 33, 85, 4). Ein Maß für die Radiosensibilisierung war die letale Zellschädigung. Radiosensibilisierende Effekte durch Halogenanaloga wurden auch an der Überlebensrate von *E. coli* beobachtet (90, 56). Eine Sensibilisierung kommt auch bei Bakteriophagen vor (116). Eine andere Art, den erhöhten Strahlenschaden zu objektivieren, ist die Untersuchung der Chromosomenschädigung an Mäuse- und Hamsterzellkulturen (112). In-vivo-Versuche mit IUDR und BUDR bestätigten die radiosensibilisierende Wirkung (8, 9, 115). Jedoch wurden auch negative Ergebnisse nach Experimenten mit Mäusen und Mäusetumoren berichtet (55). Calabresi et al. (17) übertrugen die experimentellen Erkenntnisse auf die Klinik und erzielten

an menschlichen Tumoren eindeutige Resultate einer Radio-sensibilisierung.

2. Methodische Einzelheiten

Als Tiermaterial nahmen wir 150 g schwere, männliche Wistar-Albino-Ratten. Die Tiere erhielten eine einmalige intraperitoneale Injektion von IUDR in einer Dosis von 8,9 mg/kg (1 E) oder 17,8 mg/kg (2 E). 1 E entsprach dem Wert, der in einer Arbeit über autoradiographische Untersuchungen mit H³-IUDR angegeben ist (82). Eine Stunde nach der Injektion wurde das Abdomen der Tiere mit Röntgenstrahlen von 200 r oder 400 r bestrahlt, wobei der restliche Körper mit Bleiplatten abgedeckt war. Die röntgenologischen Daten sind: Stabilipan, 200 KV, 20 mA; Filter 0,5 mm Kupfer, Abstand 40 cm, HWS 0,9 mm Kupfer; 200 r in 79,8 min, 400 r in 159,1 min. Eine Stunde nach Bestrahlung erfolgte eine Injektion mit Tritiumthymidin (H³-TDR) mit einer Radioaktivität von 500 mikro-Curie. Wiederum nach einer Stunde wurden die Tiere dekapitiert, und 3 Dünndarmzylinder direkt unterhalb des Magens entnommen. Fixierung in 4%iger Formalinlösung. Übliche histologische Aufarbeitung der Organe. Es wurden 4 mm dicke Schnitte angefertigt, diese zu Autoradiogrammen verarbeitet. Wir nahmen die Photoemulsion K2 von Ilford. Die Präparate wurden 3 Wochen bis zur Entwicklung exponiert und anschließend mit Hämatoxylin und Eosin (HE) gefärbt. Für die genaue histologische Beurteilung stellten wir sog. mit HE gefärbte Leerschnitte her, bei denen auf die autoradiographische Behandlung verzichtet worden war.

3. Ergebnisse

3.1 Histologische Untersuchungen

3.11 Untersuchungen der Krypten nach Bestrahlung

Wir sehen an den Kontrollen, daß die Markierung die Krypte im Verhältnis 2 : 1 aufteilt (Abb. 2 und 3). Die unteren Zweidrittel zeigen eine DNS-Synthese (Proliferationszone). Das obere Drittel enthält differenzierende Zellen. Die Zerstörung des Darmepithels 2 Stunden nach einer Strahlenbelastung von 200 r zeigt sich vor allem in einer massiven Zerstörung des Zellkerns (86, 110). Die Kerntrümmer liegen aber nur in der basalen Hälfte der Markierungszone. Die Intensität der Zerstörung ist an der Basis der Krypte am stärksten und nimmt nach oben hin ab (Abb. 4). Von Schnitt zu Schnitt variiert das Ausmaß der Zerstörung erheblich. Zuweilen findet man Krypten, die kaum einen erkennbaren Schaden aufweisen. Auch die Mitosen sind zum Teil geschädigt (Abb. 4). Man findet Chromosomenverklumpungen, Chromosomenfragmentationen und Brückenbildungen. Die Markierung der Zellkerne ist im wesentlichen normal.

Nach einer Bestrahlung von 400 r sehen wir eine weitaus stärkere Zerstörung in den Krypten. Vor allem wird die Wirkung der doppelten Strahlendosis daran ersichtlich, daß die Zerstörungszone meistens über die basale Hälfte der Markierungszone hinausreicht. Die Kerntrümmer sind jedoch höchst selten im oberen Drittel der Markierungszone anzutreffen. Die zerstörten Zellkerne haben zugenommen, im Lumen liegt massiver Zell-

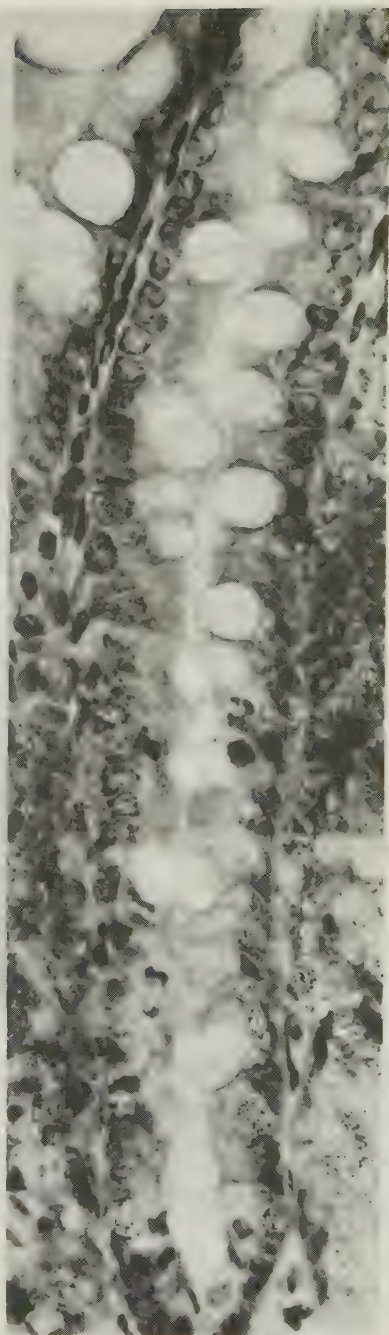
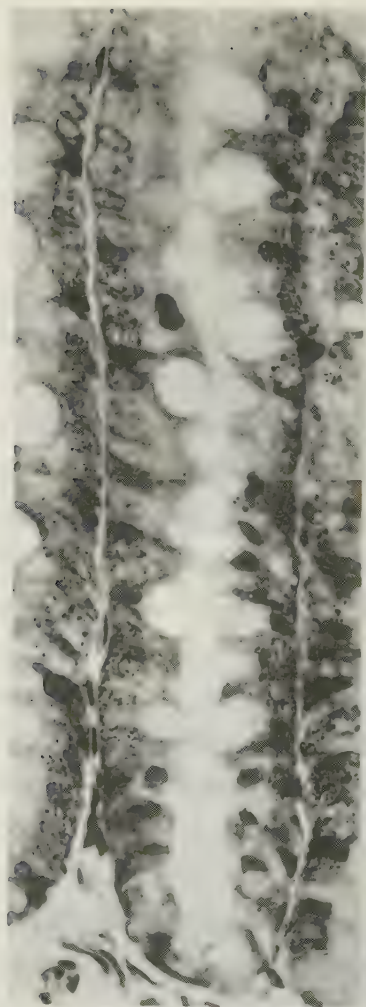


Abb. 2 u. 3. Autoradiogramme von Lieberkühn Krypten im Duodenum 1 Std. nach H^3 -Thymidin. Oben: Kontrolle, rechts: 3 Std. nach Injektion von 17,8 mg/kg IUDR. DNS-Synthese durch Markierung sichtbar. Das obere Drittel der Krypten nicht markiert. Keine Veränderungen nach IUDR. Vergr. 900 fach.

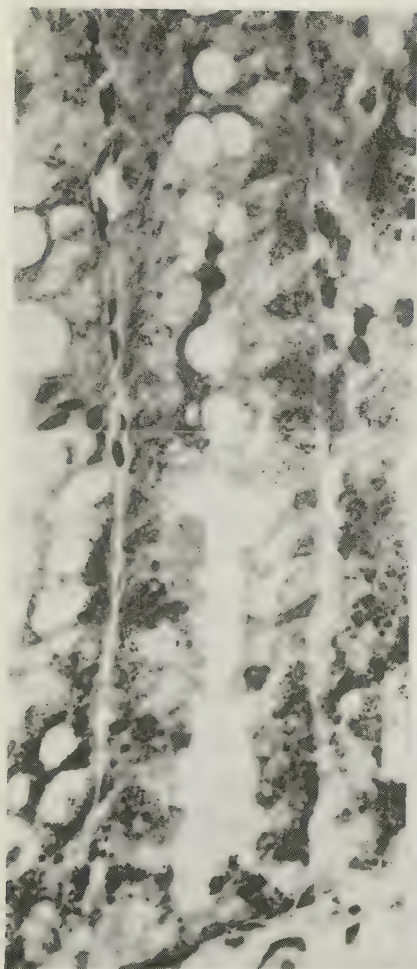


Abb. 4. Autoradiogramm der Lieberkühn Krypte im Duodenum 2 Std. nach 200 r, 1 Std nach H³-Thymidin. Zellnekrosen nur in der unteren Hälfte der Markierungszone. Atypische Mitosen. Vergr. 900 fach

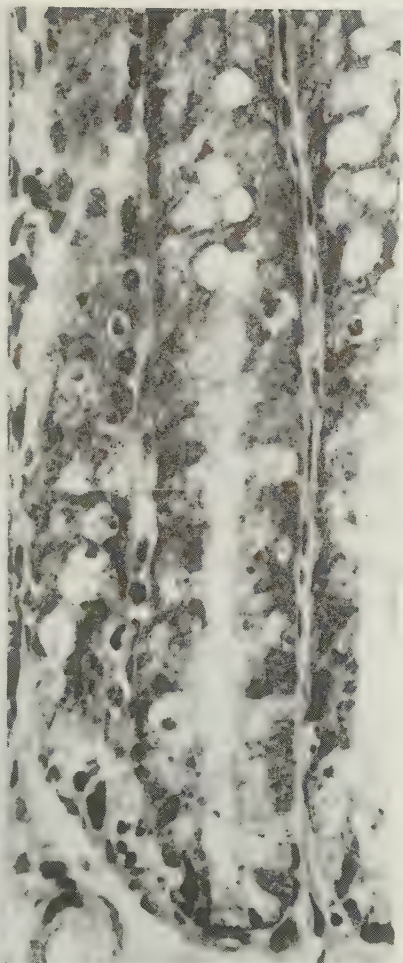


Abb. 5. Autoradiogramm der Lieberkühn Krypte 2 Std. nach 400 r, 1 Std. nach H³-Thymidin. Zellnekrosen auch in der oberen Hälfte der Markierungszone, oberes Drittel jedoch frei von Trümmern. Abnahme der markierten Zellen und der Mitosen. Vergr. 900 fach.

detritus. Vereinzelt trifft man aufgequollene Zellkerne an. Die Zahl der Mitosen ist erheblich reduziert. Die markierten Zellkerne haben abgenommen. Die Kerntrümmer im Lumen sind ungefähr im gleichen Verhältnis wie die erhaltenen Kerne markiert (Abb. 5).

3.12 Untersuchungen der Krypten nach IUDR-Injektion

Wir können nach Gaben von IUDR im wesentlichen frühere Ergebnisse (82) bestätigen. Die Zellkerne sind normal markiert und weisen keine Veränderungen auf (Abb. 3). Wir sahen jedoch mehrere atypische Mitosen (Abb. 6), die nach 2 E IUDR etwas häufiger waren als nach 1 E IUDR, sie kamen aber auch als Seltenheit in den Kontrollen vor.

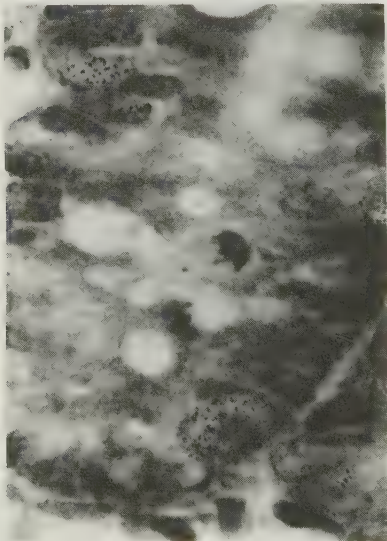


Abb. 6. Chromosomenfragmentation in der Kryptenbasis nach IUDR-Behandlung. Vergr. 1500 fach.

3.13 Untersuchungen der Krypten nach der Kombinationsbehandlung von IUDR und Röntgenstrahlen

Nach der Kombination von 2 E IUDR und 200 r kommt ein verstärkter Effekt gegenüber der alleinigen Strahlenbehandlung mit 200 r zur Geltung. Die Ausdehnung der Zerstörungszone geht über die untere Hälfte der Markierungszone hinaus, beschränkt sich aber durchschnittlich auf die unteren Zweidrittel. Die Kerntrümmer stehen dichter als nach 200 r allein, im Lumen liegt gewöhnlich massiver Zelldetritus. In den meisten Krypten findet man eine Abnahme der markierten Zellen und der Mitosen im Vergleich mit den Kontrollen (Abb. 7).

Die Strahlenschädigung erreicht nach der Kombination von 2 E IUDR und 400 r ein besonders hohes Ausmaß. Es fällt eine Vielzahl von Krypten auf, deren Markierungszone auch im oberen Drittel Kerntrümmer aufweist. Dabei ist die untere Hälfte massiv geschädigt, die obere Hälfte dagegen nur leicht (Abb. 9). Eindrucksvolle große, runde, basophile Schollen, zum Teil stark aufgetriebene Zellkerne, Eosinophilie des Cytoplasmas, massiver Zelldetritus im Kryptenlumen, ein fast völliges Fehlen der Mitosen gehören zu diesem mikroskopischen Bild (Abb. 3). Die Anzahl der markierten Zellkerne war bereits nach der Kombination von 1 E IUDR und 400 r deutlich erniedrigt. Ungefähr die Hälfte der Kerntrümmer im Lumen war markiert. Es hat den Anschein, als ob die Kombinationsbehandlung von IUDR und Röntgenstrahlen einer stärkeren alleinigen Strahlenbelastung entspricht.

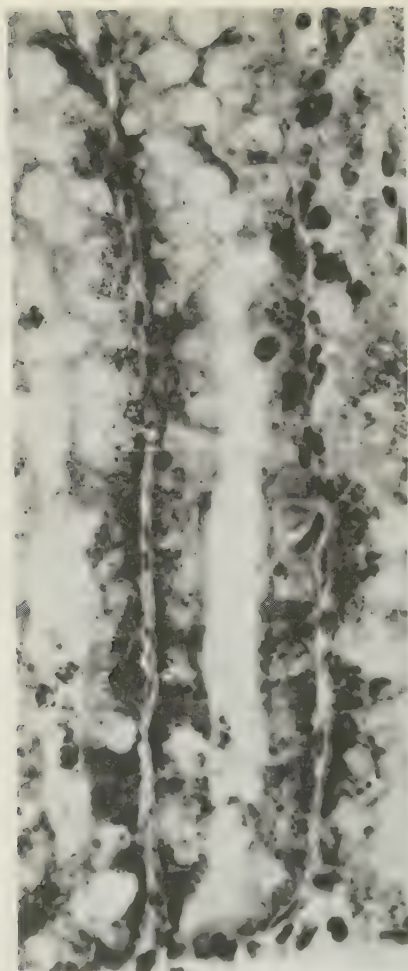


Abb. 7. Autoradiogramm der Lieberkühn Krypte 3 Std. nach IUDR 2 Std. nach 200 r, 1 Std. nach H³-Thymidin. Zelltrümmer in den unteren Zweidrittel der Markierungszone. Abnahme der markierten Zellen und der Mitosen.

Zelldetritus im Lumen. 900 fach

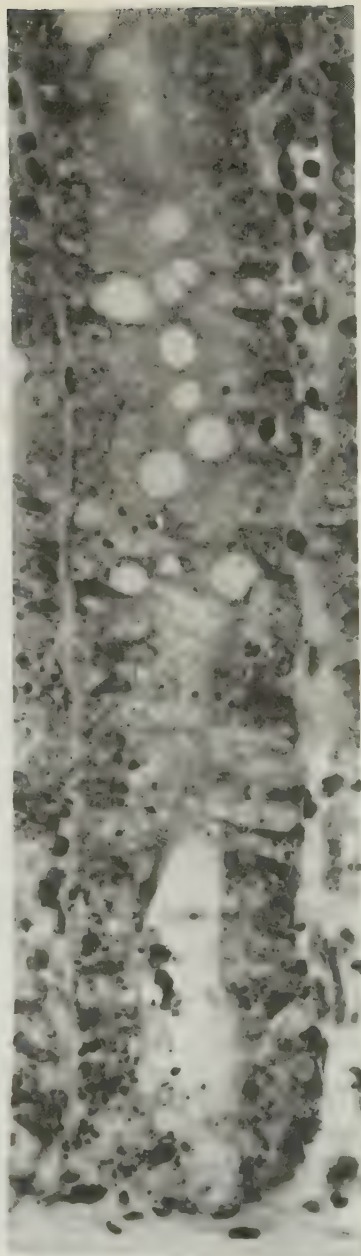


Abb. 9. Krypte nach IUDR, 400r, H³-Thymidin. Trümmer in der ganzen Markierungszone, die untere Hälfte jedoch viel stärker zerstört. Trümmer im Lumen markiert. Vergr. 900 fach.

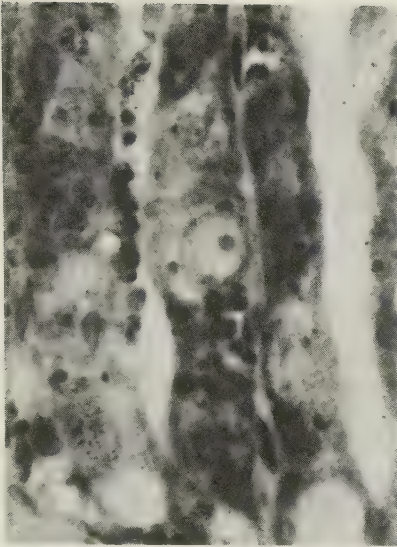


Abb. 3. Autoradiogramm der Lieberkühn Krypte im Duodenum nach IUDR, 400 r u. H³-Thymidin. Aufgequollener Zellkern mit großem Nukleolus und massiver Zelldetritus in der Kryptenwand und im Kryptenlumen. Die Trümmer teilweise markiert. Vergr. 1500 fach.

3.2 Quantitative Untersuchungen

3.21 Methode

Wir zählten die Zellkerne innerhalb der Markierungszone einer Krypte und stellten den prozentualen Anteil der markierten Zellkerne von der Gesamtzellzahl fest. Mitosen sind in der Gesamtzellzahl nicht enthalten, ebenso lumenwärts verschobene Zellkerne. Als Grenze der Markierungszone galt auf beiden Seiten der U-förmig angeschnittenen Krypte die jeweils letzte markierte Zelle. Ein Zellkern konnte mit mindestens 5 Silberkörnern als markiert angesehen werden. Das arithmetische Mittel aus 100 Krypten bei jedem Tier ergab den Markierungsindex (MAI) (110). Der Mitoseindex (MII) gibt das arithmetische Mittel des prozentualen Anteils der Mitosen von der Gesamtzellzahl (einschließlich der Mitosen) über 100 Krypten an. Der prozentuale Anteil der atypischen Mitosen wurde nach

der Auszählung von je 100 Pro- und Metaphasen in 10 Darm-schnitten pro Tier gefunden. Alle Ergebnisse der einzelnen Tiere sind aus Tabelle 1, Seite 15 zu entnehmen.

Die Einzelergebnisse wurden einer Varianzanalyse unterzogen. Als statistisches Modell diente die Formel

$$y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

(y = Beobachtungswert der i -ten Dosis, des j -ten Tieres bei der k -ten Zählung, μ = allgemeiner Mittelwert.) Zur Signifikanzprüfung des Unterschieds diente der F-Test. Die F-Werte und die zugehörigen Signifikanzschranken sind aus Tabelle 2, S. 15 zu entnehmen.

3.22 Gesamtzellzahl

Ein Vergleich der Mittelwerte der Gesamtzellzahl in der Markierungszone der einzelnen Tiere läßt keine Abhängigkeit von den verschiedenen Behandlungsarten erkennen. Anscheinend schwankt die Höhe der Markierungszone von Tier zu Tier erheblich. Die Gesamtzellzahl beträgt für alle unbestrahlten Tiere 90,3 Zellen. Die anderen entsprechenden Werte sind in Abb. 10 dargestellt. Die Höhe der Markierungszone beträgt

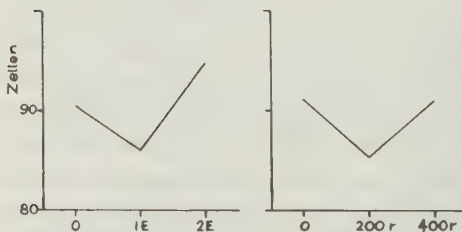


Abb. 10. Abhängigkeit der mittleren Gesamtzellzahl aller Röntgendosen von IUD (links), und aller IUDR-Dosen von der Bestrahlung (rechts).

Tabelle 1

Röntgen-Dosis	IUDR-Dosis	Markierungsindex	Mitoseindex	Atypische Mitosen	Gesamt-Zellzahl
0 r	0 E	55,0	34,7	-	90,1
0 r	0 E	55,2	40,6	1,2	94,8
0 r	1 E	56,1	41,2	3,0	87,7
0 r	2 E	55,3	41,4	3,1	92,8
0 r	2 E	52,0	33,6	6,3	94,1
200 r	0 E	54,2	31,7	11,3	95,8
200 r	0 E	56,6	27,6	11,4	93,7
200 r	1 E	47,7	30,6	13,1	72,7
200 r	1 E	49,0	26,4	16,7	87,0
200 r	2 E	42,1	21,7	20,8	76,4
200 r	2 E	46,1	16,6	21,4	96,3
400 r	0 E	49,8	11,0	-	84,0
400 r	1 E	43,4	8,3	-	92,1
400 r	1 E	41,2	10,0	-	78,2
400 r	2 E	41,7	4,6	-	103,9

Tabelle 2

Varianzanalyse für Röntgen- bzw. IUDR-Dosen	F-Wert (Markierungsindex)	Signifikanzschranke für F-Wert (Markierungsindex)	F-Wert (Mitoseindex)	Signifikanzschranke für F-Wert (Mitoseindex)
0 r	0,8 Ø	19,0	0,8 Ø	19,6
200 r	34,3 ++	9,6	9,8 Ø	9,6
400 r	0,5 Ø	200,0	13,7 Ø	200,0
0 E	16,6 Ø	19,0	26,6 +	19,0
1 E	2,7 Ø	19,0	160,5 ++	19,0
2 E	13,7 Ø	19,0	49,2 ++	19,0
Mittel aller Röntgendosen	2,8 Ø	3,9	3,4 Ø	3,9
Mittel aller IUDR-Dosen	5,6 +	3,9	53,0 +++	3,9

Ø = keine Signifikanz; +, ++, +++ = statistische Signifikanz

also rund 45 Zellen beim Kontrolltier. Cairnie et al. (15) geben für die durchschnittliche Höhe der gesamten Krypte im Rattenduodenum eine Höhe von nur 36 Zellen an, die obere Grenze der Markierungszone liegt in einer Höhe zwischen 24 und 30 Zellen. Der Vergleich dieser Ergebnisse deutet auf eine große Schwankung der Kryptenhöhe im Rattenduodenum hin. Die mittlere Grenze der Markierungszone im Jejunum der Ratte liegt nach Quastler et al. (104) bei einer Höhe von ca. 32 Zellen.

3.23 Häufigkeitsverteilungen

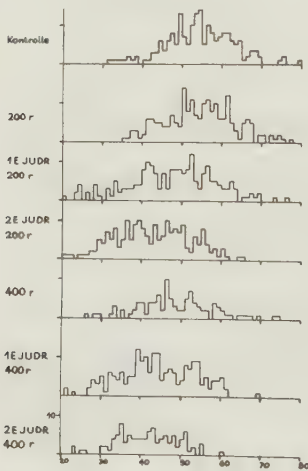


Abb. 11. Häufigkeitsverteilung des Markierungsindex pro Krypte nach verschiedenen Dosen. Abszisse: Prozent markierter Zellen; Ordinate: Zahl der Krypten



Abb. 12. Häufigkeitsverteilung des Mitoseindex pro Krypte, nach verschiedenen Dosen. Abszisse: Prozent Mitosen pro Krypte; Ordinate: Zahl der Krypten. Gestrichelt: doppelter Wert eines Tieres.

Wenn wir die Häufigkeitsverteilung des Markierungsindex (MAI) pro Krypte bei einer bestimmten Dosis verfolgen, erhalten wir eine typische Verteilungskurve. Sie hat bei jeder Dosis ungefähr die gleiche Form. Je nach Dosis ist sie mehr oder weniger nach links verschoben (Abb. 11). Die Häufigkeitsverteilung des Mitoseindex (MII) pro Krypte wurde in entsprechender Form dargestellt (Abb. 12). Übereinstimmend mit Cairnie et al. (15) zeigen die Kontrolltiere eine Poissonsche Verteilungskurve der Mitosen in den Krypten. Es läßt sich aus der Abbildung eine deutliche Verschiebung nach links mit zunehmender Röntgendosis erkennen, geringgradig auch mit zunehmender IUDR-Dosis. Besonders auffallend ist die starke Zunahme der Nullwerte bei 400 r.

3.24 Abhängigkeit des MAI und des MII

Um den Einfluß der beiden Therapiefaktoren zu studieren, haben wir eine Veränderung des Markierungsindex (MAI) zunächst in Abhängigkeit von der IUDR-Dosis (Abb. 13 links) und dann in Abhängigkeit von der Röntgendosis (Abb. 13 rechts) untersucht. Wir sehen in Abb. 13 links, daß IUDR, alleine

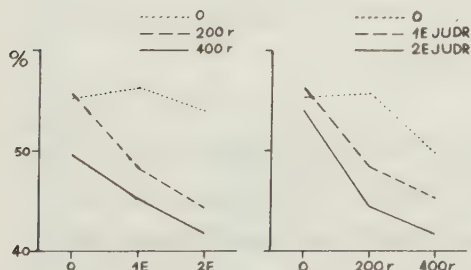


Abb. 13. Abhängigkeit des Markierungsindex von IUDR (links) und von der Bestrahlung (rechts). Abszisse: Dosierung; Ordinate: Prozent markierter Zellen (MAI).

verabreicht, keinen Effekt auf den MAI ausübt. Ein signifikanter Abfall des MAI resultiert jedoch, wenn nach der IUDR-Injektion mit 200 r bestrahlt wurde. Der MAI nimmt dann gegenüber den allein bestrahlten Tieren um 20% ab. Der Abfall des MAI in der 400-r-Kurve ist ebenfalls deutlich, statistisch jedoch nicht signifikant. Er sinkt um ca. 16%. Wir müssen jedoch dazu bemerken, daß zur Versuchsreihe mit 400 r nur vier anstatt sechs Tiere verwendet wurden. Eine Signifikanz ist bei dieser kleinen Tierzahl nicht unbedingt zu erwarten. Betrachtet man die Abhängigkeit des MAI von der Röntgenbestrahlung (Abb. 13 rechts), erkennt man eine Abnahme des MAI in allen drei Kurven. Die Mittelwerte aus allen IUDR-Dosen bei 0 r, 200 r oder 400 r ergeben einen signifikanten Unterschied zwischen den unbestrahlten und den bestrahlten Tieren (Abb. 14 rechts). So betrachtet

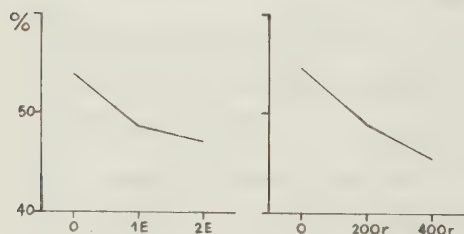


Abb. 14. Abhängigkeit der Mittelwerte aller Röntgendosen von IUDR (links) und der Mittelwerte aller IUDR-Dosen von der Bestrahlung (rechts).

vermag die Bestrahlung den MAI auf 83% des Kontrollwertes zu senken. Die Abnahme ist dosisabhängig.

Wir entnehmen aus den Kurven in Abb. 15 links (S. 13), daß IUDR auf den Mitoseindex (MII) nur dann einen Einfluß ausübt, wenn es in Kombination mit Röntgenstrahlen gegeben wird. Der MII fällt in Abhängigkeit von IUDR um 35%, wenn mit 200 r

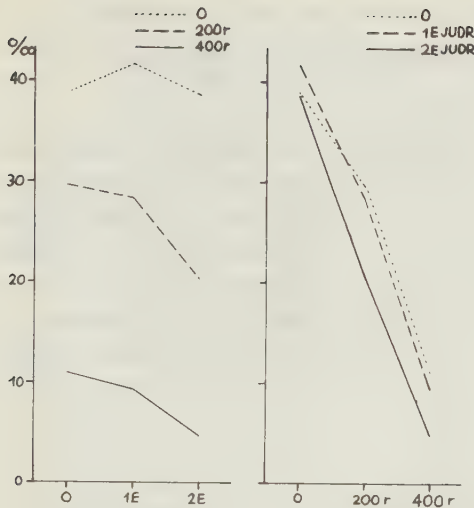


Abb. 15. Abhängigkeit des Mitoseindexes von IUDR (links) und von der Bestrahlung (rechts).

Abszisse: Dosierung;
Ordinate: Promille Mitosen pro Krypte.

bestrahlt wird, um 53% nach 400 r. Die Abnahme des MII in Abhängigkeit von der Röntgendosis (Abb. 15 rechts) ist weit- aus größer und statistisch sehr signifikant. Wenn wir alle IUDR-Kurven bei einer Röntgendosis mitteln, bekommen wir nach 200 r einen Abfall um 38%, einen weiteren Abfall ^{um 41%} nach 400 r, insgesamt also um 79%. Das bedeutet, daß nach 400 r kaum noch Mitosen zu sehen sind. Die Kombinationsbehandlung mit IUDR verstärkt die Mitoseabnahme nur wenig.

3.25 Atypische Mitosen

Mit der Abnahme des MII steigt die Zahl der atypischen Mitosen. Wie aus Abb. 16 links (S. 20) ersichtlich, nimmt die Zahl der atypischen Mitosen bei den unbestrahlten Tieren von 12% auf 7,5% infolge der IUDR-Injektion zu. Bei 200 r

vermag die IUDR-Injektion die Zahl der atypischen Mitosen gegenüber der alleinigen Bestrahlung nahezu zu verdoppeln.

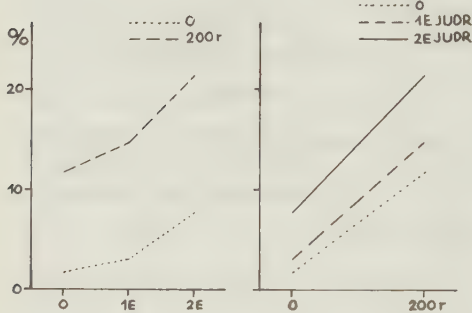


Abb. 16. Abhängigkeit der Zahl der atypischen Mitosen von IUDR (links) und von der Bestrahlung (rechts).

Abszisse: Dosierung;
Ordinate: Prozent atypischer Mitosen.

4. Diskussion

4.1 Bemerkungen zu den histologischen Veränderungen

4.11 Vergleich der Ergebnisse

Die Intensität der Trümmerdichte nimmt in der Proliferationszone von unten nach oben mit verschiedenen Dosen verschieden stark ab. Wir finden in dem oberen Drittel der Krypte über der Proliferationszone keinen Zelldetritus. Dort liegt vermutlich eine relativ hohe Strahlenresistenz vor, wie sie von dem Epithel der Darm-Zotten bekannt ist (103, 104, 105). Demnach haben wir in der Krypte ein oberes strahlenresistentes Drittel von den strahlensensiblen basalen Zweidritteln, der Proliferationszone, zu trennen. Unsere Ergebnisse berechtigen dazu, eine Unterteilung der Proliferationszone aus radiologischer Sicht zu treffen. Denn die untere Hälfte der Proliferationszone wird weitaus stärker geschädigt als die obere

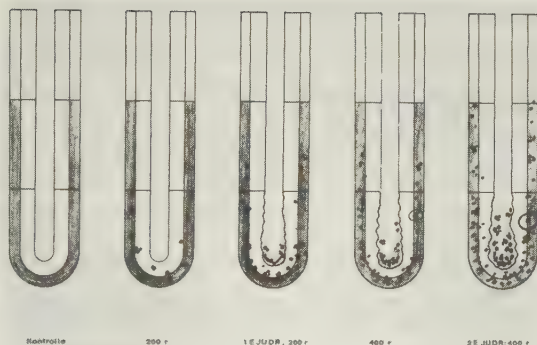


Abb. 17. Schema der histologischen Veränderungen in der Darmkrypte nach Bestrahlung, alleine und in Kombination mit IUDR. Zone der markierten Zellkerne grau getönt, dadurch die Proliferationszone hervorgehoben. Kernnekrosen durch schwarze Punkte dargestellt. Die obere Grenze der Zellnekrosen verschiebt sich mit zunehmender Dosis nach oben. Untere Hälfte der Proliferationszone stark strahlenempfindlich, obere Hälfte weniger strahlenempfindlich. Die Differenzierungszone relativ strahlenresistent. Die Krypte besteht vermutlich aus drei verschiedenen radiosensiblen Abschnitten. Aufgequollene Zellkerne nach 400 r.

von 200 r
Hälfte (Abb. 17). Eine Dosis reicht aus, um die untere Hälfte der Proliferationszone zu schädigen, die Kombination von IUDR und 400 r genügt, um den Strahlenschaden über die ganze Proliferationszone auszudehnen, wobei die untere Hälfte einen stärkeren Schaden erleidet als die obere Hälfte. IUDR verstärkt den Strahlenschaden, so daß sich die Trümmerzone im Kryptenepithel nach oben hin weiter ausdehnt. Die kombinierte

Wirkung von IUDR und 200 r scheint der Wirkung von 400 r allein zu gleichen.

4.12 Interpretation der Ergebnisse

Man könnte die unterschiedliche Strahlenreaktion im Kryptenepithel auf verschiedene Zellpopulationen zurückführen. Die Paneth Zellen sind relativ radioresistent (86, 13), und die Becherzellen können sich noch nach 1000 r ohne Störung differenzieren (38). Da sich aber die Becherzellen über das gesamte Kryptenepithel verteilen, die Paneth Zellen und die argentaffinen Zellen an der Kryptenbasis sitzen, scheint diese Annahme unwahrscheinlich. Die in der Proliferationszone nach oben zunehmende Strahlenresistenz scheint viel eher mit einem Reifeprozess der Zellen zusammenzuhängen. Denn der Grund für die Strahlenresistenz der Darmzotten wird in der Reife der Zellen gesehen (104, 110). Es darf deshalb angenommen werden, daß die Epithelzellen, die aus der Basis nach oben wandern (50, 71, 88), schon innerhalb der Proliferationszone mit zunehmender Höhe einen höheren Reifungsgrad erreichen, wodurch sie strahlenresistenter werden. Neuere Untersuchungen über die Zellneubildung im Darmepithel (15) machen diese Vermutung wahrscheinlich. Von den Autoren wird eine Unterteilung der Proliferationszone vorgenommen. Sie unterteilen in eine untere Hälfte, die im wesentlichen aus Zellen besteht, die nach ihrer Teilung proliferierende Tochterzellen hervorbringen, und in eine obere Hälfte, aus deren Mitosen hauptsächlich nicht-proliferierende Tochterzellen entstehen. Im oberen Drittel

der Krypte findet deswegen keine Proliferationmehr statt. Der Unterschied der Strahlenempfindlichkeit der Epithelzellen in der Proliferationszone scheint in der unterschiedlichen "prospektiven Potenz" (38) ihrer Tochterzelle zu liegen. Gehen aus einer Epithelzelle proliferierende Tochterzellen hervor, scheint sie bedeutend strahlensensibler zu sein als eine Epithelzelle, die sich in nicht-proliferierende Tochterzellen teilt.

4.2 Bemerkungen zu den Veränderungen des Markierungsindex

Der Abfall des MAI, der bei uns im Mittel 17%, bei Quastler et al. (104) 20% betrug, ist nicht unbedingt allein auf eine Hemmung der DNS-Synthese zurückzuführen. Grundsätzlich kann entweder der H³-Thymidin-Einbau pro Zeiteinheit verzögert sein, oder markierte Zellen können eliminiert sein. Demnach ist eine direkte Hemmung der DNS-Synthese oder ein Block im Übergang von der präsynthetischen Phase (G₁) in die DNS-Synthese-Phase (S), bzw. eine verstärkte Zerstörung der Zellen in S anzunehmen (110).

4.21 Strahleneingriff in die DNS-Synthese-Phase

Die DNS-Synthese-Phase selbst wird als relativ strahlenresistent angesehen (123, 118). An menschlichen Zellkulturen können Dosen von 200 bis 300 rad die Zellen in S mit bereits begonnener DNS-Synthese nicht mehr am Ablauf der DNS-Verdopplung hindern (66). Sogar relativ hohe Strahldosen senken die DNS-Synthese nicht unter 50% des Kontrollwertes (93). Es kommt dabei zu einer Hinderung des Syntheseablaufs (13, 87, 105) und zu einer Verlängerung von S (58, 105). Eine Synthesehemmung nach relativ niedrigen Röntgendosen von 200 und 400 r scheint fragwürdig.

Mit dem verminderten H^3 -Thymidin-Einbau pro Zeiteinheit ist noch kein direkter Beweis für eine DNS-Synthese-Störung geführt. Es ist möglich, daß der Zellstoffwechsel nach einer Bestrahlung von Abbauprodukten aus zerstörten Zellen überschwemmt wird, und die Zellen ihren Bedarf an Nukleosiden zunächst aus den anfallenden Abbauprodukten decken (110).

Da im Kryptenlumen mindestens die Hälfte der Kerntrümmer markiert ist, wäre eine besonders starke Zerstörung der Zellen in S eine einfache Erklärung für den Abfall des MAI. Jedoch erschweren unsere Ergebnisse über die Gesamtzellzahl der Markierungszone eine eindeutige Aussage. Der Kerndetritus im Kryptenlumen läßt sich nicht quantitativ erfassen. Es ist möglich, daß viele Kerntrümmer ihre DNS-Synthese bereits eingestellt haben; ein Teil der Trümmer kann auch schon ausgestoßen sein. In den Versuchen von Sherman et al. (110) waren 2/3 der Trümmer markiert, und die Prozentzahl der markierten Trümmer war größer als die der markierten erhaltenen Zellen.

4.22 Strahleneingriff in G1

Dosen von 200 bis 300 rad hindern die Hälfte der Zellen in G1, in S zu gelangen, ohne die DNS-Synthese selbst zu beeinflussen (66). Nach 5000 r sollen menschliche Knochenmarkszellen in G1 einen latenten Schaden erleiden, der die DNS-Synthese sofort zu hemmen scheint (65). Es wurde durch biochemische Ergebnisse darauf hingewiesen, ^{daß} Röntgendosen von 375 bis 1500 r in der Lage sind, einen Effekt auf die DNS-

Synthese auszuüben, wenn sie zu einem frühen Zeitpunkt von G₁ gegeben werden. Dadurch soll die Synthese der für den DNS-Aufbau notwendigen Enzyme verhindert werden (11). Neuere Untersuchungen sprechen dafür, eine Behinderung der primer-DNS durch die Bestrahlung anzunehmen (72). In Bezug auf die DNS-Syntheseaktivität scheint G₁ eine größere Strahlenempfindlichkeit zu zeigen als S selbst.

Wir haben eine Stunde nach Bestrahlung H₃-Thymidin injiziert. H₃-TDR steht dem Organismus zwischen 20 min (105) und 40 min (81) lang zur Verfügung. Die DNS-Synthese dauert rund 7 Stunden (15, 17, 61, 81, 96, 110). Mindestens 6/7 der in S bestrahlten Zellen werden also markiert (Abb. 18). Aber ebenfalls markiert werden die Zellen, die am Ende der Verfügbarkeitszeit von H₃-TDR bereits 1 1/2 Stunden in S sind, aber noch in G₁ bestrahlt wurden. Zum Zeitpunkt der Tötung bestanden somit

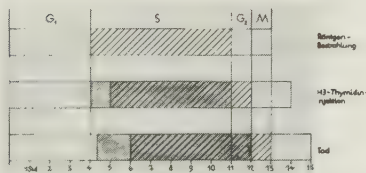


Abb. 18. Schema zur Strahlenbehandlung und Markierung. Dargestellt die Phasen des Zellzyklus während der Behandlung. In S bestrahlte Zellen schraffiert. Nach einer Std. H₃-TDR (graue Tönung). Zum Zeitpunkt der Tötung mindestens 6/7 der in S bestrahlten Zellen markiert.

mindestens 21% der markierten Zellen aus bestrahlten G₁-Zellen. Sollten die Zellen in G₁ durch Röntgendosen von 200 und 400 r dermaßen gestört werden, daß sie nicht mehr fähig sind, DNS

zu bilden, wäre ein Abfall des MAI um fast 20% durchaus zu verstehen.

4.23 Markierungsindex in anderen Organen und in Kulturen

Looney et al. (72) zeigten an der regenerierenden Rattenleber, daß der Markierungsindex erst nach 40 000 r signifikant erniedrigt war. Die mittlere Körnerzahl pro markierter Zelle fiel dagegen schon nach niedrigeren Röntgendosen ab. Am Hoden von Ratten führt eine Bestrahlung von 250 r zu einer Abnahme des Markierungsindex auf praktisch null (35). Im Gegensatz zu in-vivo-Versuchen zeigten Kulturen einen Anstieg des Markierungsindex zwei Stunden nach Bestrahlung, der durch den Mitosestop der Zellen in G2 erklärt wird (92). Ein Anstieg des Markierungsindex in Zellkulturen kann auch eine Verknüpfung in S bedeuten, die nach Dosen von 500 r ca. 6 Stunden betragen soll (58).

4.26 Schlußfolgerung

Wir haben aus zahlreichen Experimenten verschiedener Autoren Hinweise für eine direkte DNS-Synthese-Störung, eine Störung in G1 und eine verstärkte Zellzerstörung in S. Die Ergebnisse über den Markierungsindex nach den verschiedenen Versuchsanordnungen sind recht unterschiedlich. Die Abnahme der mittleren Körnerzahl wird jedoch meistens beobachtet (110, 35, 58, 72). Der verminderte H³-Thymidin-Einbau nach Bestrahlung scheint gesichert. Man darf aber nicht annehmen, daß eine Störung in einer bestimmten Phase des Generationszyklus allein die einzige Ursache der Strahlenwirkung auf die Zelle,

die markiert wird, bedeutet. Der Abfall des Markierungsindex scheint vielmehr die Summe mehrerer Strahleneingriffe in verschiedene Phasen des Generationszyklus widerzuspiegeln.

4.3 Bemerkungen zu den Mitosestörungen

4.31 Mitoseindex

Schon frühzeitig wurde erkannt, wie rasch die Ausbildung der Mitose durch Strahleneinflüsse verhindert werden kann. (1). Der Mitoseabfall beginnt vor den morphologischen Zellveränderungen (125). Jedoch scheint der Ablauf der Mitose nicht gehindert zu werden, sobald die Mitose nach Auflösung der Kernmembran morphologisch sichtbar geworden ist (10, 124). Offensichtlich kommt eine Mitosehemmung nur dann zustande, wenn die Zellen vor der Teilung bestrahlt werden. Zahllose Ergebnisse deuten darauf hin, den kritischen Moment der Mitosehemmung in der prämitotischen Phase (G2) anzunehmen (13, 41). Die Mitosehemmung wird am Darm verschiedener Tiere (10, 13, 40, 124, 125) und in Zellkulturen beobachtet (12, 26, 53, 65, 92, 123). Dabei zeigte sich, daß der Mitoseeintritt umso mehr eine Verzögerung erfährt, je höher die Röntgendosis ist. Allerdings dauert die Mitoseverzögerung der Zellen, die ihre Bestrahlung in S oder G2 erhielten, fast dreimal länger als die^{der} bestrahlten G1-Zellen (26). Ähnliche Ergebnisse erhält man nach Doppelmarkierung (12).

In unseren Versuchen ist ein kompletter G2-Block anzunehmen (40, 125). Er scheint aber bis zum Tod der Tiere nicht anzuhalten. Denn ein Mitoseindex von 60% des Kontrollwertes nach 200 r zeigt uns, daß die mitosefreie Zwischenzeit weniger als zwei Stunden gedauert hat. Zwei Stunden nach einer Bestrahlung

von 200 r haben 60% der blockierten Zellen ihre Mitose begonnen. Zwei Stunden nach 400 r erhalten wir eine entsprechend längere Mitoseverzögerung, nur 20% der blockierten Zellen sind in die Mitosephase eingetreten. Andere Autoren haben nach Bestrahlungen mit 500 r bzw. 450 r einen Anstieg der Mitosezahl im Rattenduo-
num erst nach 6 bzw. 8 Stunden beobachtet (40, 125). Unsere Versuchsanordnung zeigt einen Mitoseabfall um 40% nach 200 r, um weitere 40% nach 400 r: Der Abfall des Mitoseindex scheint sich proportional zur Röntgendosis zu verhalten.

4.32 Atypische Mitosen

Chromosomenfragmentationen sind zum einen als Störung der Mitose selbst, zum anderen als Ruhekernstörung beschrieben (77). Ruhekernstörungen sind ein Zellschädigungstyp des Sekundäreffektes (1, 77), das heißt der Phase, die auf den Primäreffekt und auf die mitosefreie Zwischenzeit folgt. Kulturversuche ergaben, daß die Chromosomenbrüche derjenigen Zellen, die ihre Bestrahlung in S oder in G₂ erhielten, häufiger waren als die der Zellen, die in G₁ bestrahlt wurden (26). Im Gegensatz dazu wurde eine dreibis viermal größere Chromosomenfragmentation von bestrahlten G₁-Zellen im Vergleich mit in S bestrahlten Zellen beschrieben (48). Man sieht aus den Ergebnissen, daß die Ruhekernstörung nicht an eine bestimmte Phase im Zellzyklus gebunden zu sein scheint. Wir können in unseren Versuchen die atypischen Mitosen einer Ruhekernstörung zuordnen, die in dem Zeitraum zwischen einer späten Phase von S bis G₂ liegt.

4.4 Bemerkungen zur Kombinationsbehandlung mit IUDR und Röntgenstrahlen

4.41 Pharmakologische Wirkungen von IUDR

Wir waren bestrebt, IUDR so gering wie möglich zu dosieren, um toxische Nebenwirkungen zu vermeiden. IUDR hat in höheren Dosen einen zytostatischen Effekt auf transplantable Mäusetumoren (53,54), und auf menschliche Tumoren (16, 17) und gilt als toxische Substanz (99, 121, 122). Nach niedriger Dosierung wird IUDR ohne Anzeichen einer Toxizität vertragen (29, 44, 53). In Autoradiogrammen konnte gezeigt werden, daß mit H³ markiertes IUDR in Dosen von 9 mg/kg am Darmeepithel von Mäusen weder Störungen des Generationszyklus noch im Reifungsprozeß hervorruft (82) (Abb. 19). Es liegt bereits eine Fülle

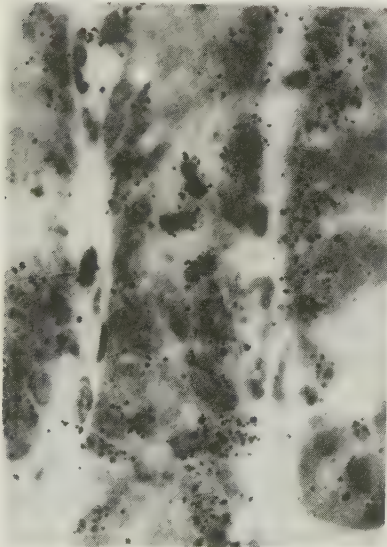


Abb. 19. Autoradiogramm des Duodenums der Maus, 8 Stunden nach Injektion von H³-IUDR. Epithelzellen in der Proliferationszone markiert, alle Mitosen markiert. Vergr. 1150 fach. Aus Merz (82).

von Untersuchungen vor, die die Aufmerksamkeit auf verschiedene Angriffspunkte von IUDR auf die Zelle lenken (101). Im

Vordergrund steht die Kompetitive Verdrängung von TDR beim Einbau in die DNS (98, 99, 100, 37, 64, 79), außerdem wird die Bildung von TDR-5'-Phosphat (TMP) unterbunden (23, 24, 98, 100). Von weiterem Interesse ist die primäre Hemmung der TDR-Kinase, TMP-Kinase und DNS-Polymerase (24). Der Gehalt von IUDR in der DNS der Zelle kann zu einer veränderten Basensequenz führen (101). Die toxischen und wachstumshemmenden Eigenschaften von IUDR scheinen aber nur in geringem Maße von dem IUDR-Gehalt in der DNS abzuhängen (24, 53, 101). Trotzdem ist die Anzahl und die Verteilung der durch halogenierte Thymidinanalogo besetzten Thymidinstellen im DNS-Muster für deren Wirkung von einiger Bedeutung. Thymidinstellen, die für die Funktion der DNS wichtig sind, werden erst in hohen Konzentrationen von Thymidinanalogen blockiert (111). Es scheinen auch Abbauprodukte von IUDR eine Rolle bei der Wachstumshemmung zu spielen (53). Oehlert et al. (89) halten eine Störung im RNS-Stoffwechsel für möglich.

4.42 IUDR-Einbau in die DNS des Darms

Die Wirkung kleiner IUDR-Dosen macht sich vor allem durch den Einbau in die DNS bemerkbar. Dieses Phänomen wurde bereits dazu benutzt, IUDR anstelle von TDR zu DNS-Synthesestudien heranzuziehen (51, 76). Der Einbau von IUDR in die DNS hängt weitgehend von der proliferativen Aktivität der Gewebe ab. Bei Mäusen und Ratten nimmt der Gastrointestinaltrakt relativ viel IUDR in die DNS auf (29, 44, 51, 102, 106). Die Halbwertszeit für die Inkorporation von IUDR scheint 5 min zu betragen, so daß der Einbau nach 30 min seinen endgültigen Wert erreicht (51). Es wurde gezeigt, daß IUDR in Mäusen innerhalb

einer Stunde entweder in die DNS eingebaut oder zu Iodid abgebaut ist (19, 44, 64).

Der Einbau von IUDR in die DNS kann durch vorausgehende Bestrahlung verhindert werden (20, 42). Deshalb kommt ein radiosensibilisierender Effekt vermutlich nur dann zustande, wenn IUDR vor der Bestrahlung injiziert wird. Da der IUDR-Einbau auch durch TDR-Injektionen gehemmt werden kann (99), darf H₃-TDR erst nach einer gewissen Zeit gegeben werden. Ein zeitlicher Abstand von zwei Stunden genügt in unserem Experiment, um diese kompetitive Hemmung auszuschließen. Zum Zeitpunkt der H₃-TDR-Injektion ist weder freies IUDR vorhanden, da es bereits abgebaut wurde, noch eingebautes IUDR durch TDR zu ersetzen, da es stabil in der DNS eingebaut ist (51). Infolge der verspäteten Markierung mit H₃-TDR um zwei Stunden werden nicht alle IUDR-synthetisierenden Zellen markiert. Bei einer Syntheszeit von 7 Stunden können ungefähr 5/7, das heißt 70% der IUDR-haltigen Zellen markiert sein, was in Abb. 20 schematisch dargestellt ist.

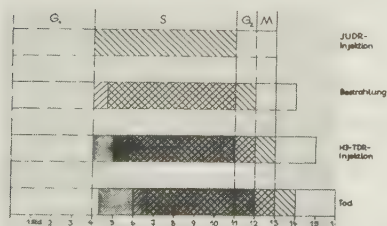


Abb. 20. Schema zur Kombinationsbehandlung von IUDR und Röntgenstrahlen. Dargestellt sind die Phasen des Zellzyklus im Verlauf der Therapie. IUDR-haltige Zellen links-schräg schraffiert, die in S bestrahlten Zellen rechts-schräg schraffiert. Markierung durch graue Tönung hervorgehoben. Mindestens 5/7 der IUDR-haltigen Zellen markiert, mindestens 6/7 der in S bestrahlten Zellen markiert.

4.43 Radiosensibilisierung durch IUDR

Von Szybalski (114) wird als Ursache der größeren Strahlenempfindlichkeit der Zelle, in deren DNS ein Teil des Thymins durch Bromuracil ersetzt ist, eine Instabilität der vom Brom benachbarten Phosphodiesterbrücke angenommen, die auf einer elektrostatischen Abstoßung beruhen soll. Zur Sensibilisierung genügt anscheinend schon eine Halogenierung durch IUDR oder BUdR in einem DNS-Strang (31, 56), wie es unserer Versuchsanordnung mit IUDR entspricht. Der Grad der Radiosensibilisierung ist aber von dem Gesamtgehalt von IUDR, das TDR ersetzt hat, abhängig (31). Einen zusätzlich radiosensibilisierenden Effekt übt die strahleninduzierte Dehalogenierung aus, was an BUdR-haltigen Kulturen nach UV-Bestrahlung gezeigt wurde (120). Möglicherweise ist die Folge der Radiosensibilisierung eine Potenzierung des irreparablen Strahlenschadens oder eine Verhinderung, den reversiblen Strahlenschaden zu reparieren (28). Untersuchungen an Zellkulturen ergaben aber, daß der Mechanismus der Radiosensibilisierung mit einer Zerstörung des Reparaturmechanismus der Zelle nicht verbunden ist (57). Es scheint ferner möglich, daß die IUDR-DNS ihre Funktion als Matrize für messenger-RNS nach der Bestrahlung verliert (31). Wir können den Abfall des Markierungsindex in unseren Versuchen durch eine potenzierte Zerstörung der Zellen in S erklären. Der strahleninduzierte Soforttod der Zelle nimmt anscheinend durch den IUDR-Einbau zu. Es scheint außerdem denkbar, daß beide Noxen in Kombination auch in der präsynthetischen Phase (G1) eingreifen und sich potenzieren, da sowohl Röntgenstrahlen (11) als auch IUDR (24) Enzyme wie die Thymidin-Kinase und die DNS-Polymerase hemmen.

Nach einer IUDR-Injektion kommt es bereits ohne Bestrahlung zu einer leichten Erhöhung der Zahl der Chromosomenfragmentationen, die von 1,2% auf 7,5% ansteigt. Atypische Mitosen sind in proliferierenden Geweben die Regel (22). Aber kleine IUDR-Dosen führen anscheinend schon zu einer leichten Mitosestörung. Schwere Mitosestörungen kommen nach hohen BUDR-Konzentrationen in der Kultur vor (28, 49). Eine Bestrahlung ruft an BUDR-haltigen Zellen im Gegensatz zu BUDR-freien Zellen eine drastische Zunahme von Chromatidbrüchen hervor, die in 30% an der gleichen Stelle im Chromatid erfolgen (112). Andere Untersuchungen an BUDR-behandelten Zellen ergaben, daß eine Bestrahlung in S mit einem 5-fachen Anstieg des Chromosomenschadens im Vergleich mit den BUDR-unbehandelten Zellen beantwortet wurde (52). Wichtig schien dabei zu sein, ob BUDR in einem Strang der DNS oder in beiden DNS-Strängen eingebaut ist.

Eine Zelle mit einer halogenbesetzten DNS scheint gegen Strahlen anfälliger zu sein. Aus der Kombinationswirkung von IUDR und Röntgenstrahlen resultiert nicht nur eine potenzierte Ruhekerntörung, sondern auch eine verstärkte Mitosestörung.

Zusammenfassung

Anhand von Beispielen aus der Literatur wird kurz auf das Phänomen der Radiosensibilisierung durch chemische Substanzen eingegangen, unter denen die Thymidinanaloge eine besondere Stellung einnehmen. In unseren Versuchen wurde die radiosensibilisierende Wirkung durch IUDR am Duodenum weißer Ratten durch

die histologische Beurteilung des Strahlenschadens, durch die Untersuchung des Markierungsindex, des Mitoseindex und der Zahl der atypischen Mitosen geprüft. Die Anzahl der markierten Zellen und der Mitosen nahm nach der Strahlenbehandlung dosisabhängig ab, die der atypischen Mitosen zu. Wir konnten beobachten, daß IUDR die Strahlenreaktion verstärkt. Es kommt dabei anscheinend zu einer Potenzierung. Alleinige IUDR-Gaben rufen eine leichte Zunahme der Zahl der atypischen Mitosen hervor, machen aber sonst in niedrigen Dosen keine erkennbaren Veränderungen.

Hinsichtlich der histologischen Veränderungen machten wir die Beobachtung, 1) daß sich die obere Grenze der Zellnekrosen in der Lieberkühn Krypte mit zunehmender Röntgen- bzw. IUDR-Dosis nach oben zur Mündung verschiebt, 2) daß die Zone der Zellnekrosen nicht über die Proliferationszone der Krypte hinausreicht, 3) daß die Proliferationszone in eine stark beschädigte untere Hälfte und eine geringgradig beschädigte obere Hälfte unterteilt werden kann. Das Epithel der Krypte besteht vermutlich aus drei verschiedenen strahlenempfindlichen Abschnitten. Die Zellen erreichen anscheinend bei ihrer Wanderung nach oben einen zunehmenden Reifungsgrad, der verantwortlich für die unterschiedliche Strahlenreaktion in den drei verschiedenen Abschnitten ist.

Literaturverzeichnis

1. Alberti, W., Politzer, G.: Über den Einfluß der Röntgenstrahlen auf die Zellteilung. Arch. mikr. Anatom., 100: 83 - 109 (1923)

2. d'Angio, G.J.: Laboratory and clinical observations with combined actinomycin D and x-irradiation. Laval Med., 34: 137 - 9 (1963)
3. Baclesse, F., Delaplace, R.: Sensibilisation chimique en radiothérapie. Résultats cliniques. Antibiotica et chemotherapia, 8: 374 - 6 (1960)
4. Bagshaw, M.A.: Modification of the radiosensitivity of hamster cells in vitro. Nature, 193: 389-91 (1962)
5. Bagshaw, M.A.: Approaches for combined radiation and chemotherapy. Laval Med., 34: 124-33 (1963)
6. Bane, H.N., Conrad, J.T., Tarnowski, G.S.: Combination therapy of malignant tumors with ionizing radiations and chemicals. A review. Cancer Res., 17: 551-66 (1957)
7. Baserga, R.: The relationship of the cell cycle to tumor growth and control of cell division: a review. Cancer Res., 25: 234-40 (1965)
8. Berry, R.J., Andrews, J.R.: Modification of the radiation effect on the reproductive capacity of tumor cells in vivo with pharmacological agents. Radiation Res., 16: 82-88 (1962)
9. Berry, R.J., Andrews, J.R.: Modification of radiation effect on mammalian tumor cells by pharmacological agents. Nature, 196: 185-86 (1962)
10. Bloom, W., Bloom, M.A.: Histological changes after irradiation. In: Radiation Biology. Hrsg. A. Hollaender, Vol. 1, Part 2, Mc Graw-Hill, New York
11. Bollum, F.J., Anderegg, J.W., Mc Elya, A.B., van Potter, R.: Nucleic acid metabolism in regenerating rat liver. VII. Effect of x-radiation on enzymes of DNA synthesis. Cancer Res., 20: 138-43 (1960)
12. Bootsma, D.: Changes induced in the first post-irradiation generation cycle of human cells studied by double labeling. Exp. Cell Res., 38: 429-31 (1965)
13. Braun, H.: Darm. In: Strahlenpathologie der Zelle. Hrsg. E. Scherer und H.S. Stender, G. Thieme, Stgt. 1963

14. Brodersen, H.: Mitosegifte und ionisierende Strahlung. Strahlentherapie, 73: 196-254 (1943)
15. Cairnie, A.B., Lamerton, L.F., Steel, G.G.: Cell proliferation studies in the intestinal epithelium of the rat. I. Determination of the kinetic parameters. II. Theoretical aspects. Exp. Cell Res., 39: 528-38, bzw. 539-53 (1965)
16. Calabresi, P.: Current status of clinical investigations with 6-azauridine, 5-iodo-2'-deoxyuridine, and related derivatives. Cancer Res., 23: 1260-67 (1963)
17. Calabresi, P., Cardoso, S.S., Finch, S.C., Kligerman, M.M., von Essen, C.F., Chu, M.Y., Welch, A.D.: Initial clinical studies with 5-iodo-2'-deoxyuridine. Cancer Res., 21: 550-59 (1961)
18. Calabresi, P., Creasey, W.A., Prusoff, W.H., Welch, A.D.: Clinical and pharmacological studies with 5-iodo-2'-deoxycytidine. Cancer Res., 23: 583-92 (1963)
19. Clifton, K.H., Szybalski, W., Heidelberger, C., Gollin, F. F., Ansfield, F.J., Vermund, H.: Incorporations of I-125-labeled iododeoxyuridine into the deoxyribonucleic acid of murine and human tissues following therapeutic doses. Cancer Res., 23: 1715-23 (1963)
20. Connerford, S.L., Fittin, D., Hughes, W.I.: Inhibitory effect of small doses of x-radiation on incorporation of iododeoxyuridine (IUDR) into DNA. Fed. Proc., 19: 359 (1960)
21. Costachel, D., Furnica, M., Tautu, P., Popovici, O.: Contributions à l'étude de la sensibilisation aux rayons X et aux radiomimétiques à l'aide de certaines substances chimiques. Radiobiol. Radiother., 3: 301-8 (1962)
22. Curtis, H.J.: Cellular processes involved in aging. Fed. Proc., 23: 662-7 (1964)
23. Delamore, I.W., Prusoff, W.H.: Studies on the mechanism of 5-iodo-2'-deoxyuridine. Proc. Am. Ass. Cancer Res., 3: 219 (1961)
24. Delamore, I.W., Prusoff, W.H.: Effect of 5-iodo-2'-deoxyuridine on the biosynthesis of phosphorylated derivatives of thymidine. Biochem. Pharmacol., 11: 101-12 (1962)

- Delihias, N., Rich, M.A., Aidinoff, M.L.: Radiosensitizing of a mammalian cell line with 5-bromodeoxyuridine. *Radiation Res.*, 17: 479-91 (1962)
- Dewey, W.C.; Humphrey, R.M.: Relative radiosensitivity at different phases in the life cycle of L-P 59 mouse fibroblasts and ascites tumor cells. *Radiation Res.*, 16: 503-30 (1962)
- Dittrich, W., Heinrich, H.: Die Strahleninduktion pathologischer Mitoseformen in Zellen verschiedener Linien des Ehrlich-Ascites-Carcinoms. *Ztschr. Krebsforsch.* 61: 38-44 (1956)
- Djordjevic, B., Szybalski, W.: Genetics of human cell lines. III. Incorporation of 5-bromo- and 5-iododeoxyuridine into the deoxyribonucleic acid of human cells and its effect on radiation sensitivity. *J. Exp. Med.*, 112: 509-31 (1960)
- Eidinoff, M.L., Cheong, L., Gambetta, G.E., Benua, R.S., Ellison, R.R.: Incorporation of 5-iodouracil labeled with iodine-131 into the deoxyribonucleic acid of human leukaemic leukocytes following in vivo administration of 5-iododeoxyuridine labeled with iodine-131. *Nature*, 183: 1686-87 (1959)
- Erikson, R.L., Szybalski, W.: Molecular radiobiology of human cell lines. I. Comparative sensitivity to x-ray and ultraviolet light of cells containing halogensubstituted DNA. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 4: 258-61 (1961)
- Erikson, R.L., Szybalski, W.: Molecular radiobiology of human cell lines. III. Radiation-sensitizing properties of 5-iododeoxyuridine. *Cancer Res.*, 23: 122-30 (1963)
- Erikson, R.L., Szybalski, W.: Molecular radiobiology of human cell lines. IV. Variation in ultraviolet light and x-ray sensitivity during the division cycle. *Radiation Res.*, 18: 200-12 (1963)
- Erikson, R.L., Szybalski, W.: Molecular radiobiology of human cell lines. V. Comparative radiosensitizing properties of 5-halodeoxycytidines and 5-halodeoxyuridines. *Radiation Res.*, 20: 252-62 (1963)

34. von Essen, C.F.: Radiation and 5-fluoruracil: a controlled clinical study. *Radiology*, 81: 1018-27 (1963)
35. Fasseke, E., Themann, H.: Zellkern. In: *Strahlenpathologie der Zelle*. Hrsg. E. Scherer und H.S. Stender, G. Thieme, Stuttgart 1963
36. Fiorentino, M., Conte, G.: Il 5-fluorouracile solo ed associato alle radiazioni in oncologia. *Tumori*, 49: 379-88 (1963)
37. Fox, B.W., Prusoff, W.H.: The comparative uptake of I-125-labeled 5-iodo-2'-deoxyuridine and thymidine-H₃ into tissues of mice bearing hepatoma-129. *Cancer Res.*, 25: 234-40 (1965)
38. Friedman, M., Daly, J.F.: Combined irradiation and chemotherapy in the treatment of squamous cell carcinoma of the head and neck. *Amer. J. Roentgen.*, 90: 246-60 (1963)
39. Friedman, N.B.: Cellular dynamics in the intestinal mucosa: the effect of irradiation on epithelial maturation and migration. *J. Exp. Med.*, 81: 553-7 (1945)
40. Friedman, N.B., Sargent, J.A., Drutz, E.: Certain effects of irradiation and chemotherapy on cellular division and differentiation. *Cancer Res.*, 15: 479-84 (1955)
41. Gärtner, H.: Untersuchungen an der Gewebekultur. In: *Strahlenpathologie der Zelle*. Hrsg. E. Scherer und H.S. Stender, G. Thieme, Stgt. 1963
42. Gitlin, D., Commerford, S.L., Amsterdam, E., Hughes, W. L.: X-rays affect the incorporation of 5-iododeoxyuridine into deoxyribonucleic acid. *Science*, 133: 1074-5 (1962)
43. Gollin, F.F., Ansfield, F.J., Vermund, H.: Clinical studies of combined chemotherapy and irradiation in inoperable bronchogenic carcinoma. *Amer. J. Roentgen.*, 92: 88-95 (1964)
44. Hampton, E.G., Eidinoff, M.L.: Administration of 5-iododeoxyuridine-I131 in the mouse and rat. *Cancer Res.*, 21: 345-52 (1961)
45. Harbers, E.: *Die Nucleinsäuren*. G. Thieme, Stgt. 1964

46. Harbers, E.: Experimentelle Untersuchungen über das Zusammenwirken von Chemotherapeutica und Röntgenstrahlen. Krebsforsch. Krebsbekämpf., 5: 182-38 (1964)
47. Howe, C.D., Fletcher, G.H., Samuels, M.L., Suit, H.D.: Combined 5-fluoruracil and cobalt irradiation evaluated by double blind technique. Acta Un. Int. Cancr., 20: 400-3 (1964)
48. Hsu, T.C., Dewey, W.C., Humphrey, R.M.: Radiosensitivity of cells of chinese hamster in vitro in relation to the cell cycle. Exp. Cell Res., 27: 441-52 (1962)
49. Hsu, T.C., Somers, C.W.: Effect of 5-bromodeoxyuridine on mammalian chromosomes. Proc. Nat. Acad. Sci., 47, (1961) 396
50. Hughes, W.L., Bond, V.P., Brecher, G., Cronkite, E.P., Painter, R.B., Quastler, H., Sherman, F.G.: Cellular proliferation in the mouse as revealed by autoradiography with tritiated thymidine. Proc. Nat. Acad. Sci., 44: 476-83 (1958)
51. Hughes, W.L., Commerford, S.L., Gitlin, D., Krueger, R.C., Schultze, B., Shah, V., Reilly, P.: Deoxyribonucleic acid metabolism in vivo: I. Cell proliferation and death as measured by incorporation and elimination of iododeoxyuridine. Fed. Proc., 23: 640-8 (1964)
52. Humphrey, R.M., Dewey, W.C.: Radiosensitivity of normal and 5-bromodeoxyuridine treated mammalian cells during different phases of the cell cycle. Exp. Cell Res., 39: 483-95 (1965)
53. Jaffe, J.J., Günther, H., Welch, A.D.: Studies of the pharmacology and anti-tumor activity of iododeoxyuridine, an analog of thymidine. Proc. Am. Ass. Cancer Res., 3: 54 (1959)
54. Jaffe, J.J., Prusoff, W.H.: Effect of 5-iododeoxyuridine upon the growth of some transplantable rodent tumors. Cancer Res., 20: 1383-8 (1960)
55. Kallman, R.: Carmel Conferende on Experimental Advances in Radiotherapy. Carmel, California, May 1960. Research in radiotherapy approaches to chemical sensitization. National Academy of Sciences. Pub. 888, pp. 178-9, 1961. Zit.: Kriss, J.P. et al. (1961)

56. Kaplan, H.B., Smith, K.C., Tomlin, P.A.: Effect of halogenated pyrimidines on radiosensitivity of *E. coli*. *Radiat. Res.*, 16: 98-113 (1962)
57. Kim, J.K., Eidinoff, M.L., Delihass, N., Laughlin, J.S.: The effect of 5-bromodeoxyuridine on the recovery phenomenon in sub-lethally irradiated cells. *Exp. Cell Res.*, 36: 411-5 (1964)
58. Kim, J.H., Evans, T.C.: Effects of irradiation on the mitotic cycle of Ehrlich ascites tumor cells. *Radiat. Res.*, 21: 129-43 (1964)
59. Kligerman, M.M., Shapiro, D.M.: Augmentation of radiotherapeutic effect of cancer chemotherapy. *Radiology*, 69:194-9 (1957)
60. Knörr-Gärtner, H., Dehnhard, F.: Zytomorphologische Untersuchungen an HeLa-Zellen nach getrennter und kombinierter Anwendung von Trenimon und Kobalt⁶⁰-Gammastrahlen. *Strahlentherapie*, 125: 239-57 (1964)
61. Koburg, E., Schultze, B.: Autoradiographische Untersuchungen mit H-3-Thymidin über die Dauer der DNS-Synthese, der Ruhephase und der Mitose bei proliferierenden Systemen wie den Epithelien des Darms, der Oesophagus und der Cornea der Maus. *Verh. Deutsch. Ges. Path.*, 45: 103-7 (1961)
62. Koch, R., Seiter, I.: Zur chemischen Beeinflussung der Strahlenempfindlichkeit verschiedener experimenteller Tumoren. *Arzneim. Forsch.*, 14: 1018-21 (1964)
63. Kriss, J.P., Revesz, L.: Quantitative studies of incorporation of exogenous thymidine and 5-bromodeoxyuridine into deoxyribonucleic acid of mammalian cells in vitro. *Cancer Res.*, 21: 1141-7 (1961)
64. Krueger, R.C., Gitlin, D., Commerford, S.L., Stein, J., Hughes, W.L.: Iododeoxyuridine (IDU) as a tracer of DNA metabolism in vivo. *Fed. Proc.*, 19: 307 (1960)
65. Lajtha, L.G., Oliver, R., Ellis, F.: Incorporation of ³²P and adenine ¹⁴C into DNA by human bone marrow cells in vitro. *Brit. J. Cancer*, 8: 367-79 (1954)

66. Lajtha, L.C., Oliver, R., Kumatori, T., Ellis, F.: On the mechanism of the radiation-effect on DNA-synthesis. *Radiation Res.*, 8: 1-16 (1958)
67. Langdon, E.A.: Early results of combined radiation and chemotherapy in treatment of malignant tumors. *Radiology*, 81: 1008-13 (1963)
68. Langendorff, H., Koch, R.: Untersuchungen über einen biologischen Strahlenschutz. IX. Mitteilung. Zur Wirkung von SH-Blockern auf die Strahlenempfindlichkeit. *Strahlentherapie*, 95: 535-41 (1954)
69. Latourette, H.B., Lawton, R.L.: Combined radiation and chemotherapy. *JAMA*, 136: 1057-60 (1963)
70. Lazarev, N.V.: (The problem of drug radiosensibilisation of tumors.) *Probl. onkol.*, 4: 102 (1962)
71. Leblond, C.P., Messier, B.: Renewal of chief cells and goblet cells in small intestine as shown by radioautography after injection of thymidine-H³ into mice. *Anat. Rec.*, 132: 247-59 (1958)
72. Looney, W.B., Chang, L.O., Williams, S.S., Forster, J., Haydock, I.C., Banghart, F.W.: An autoradiographic and biochemical study of the effects of radiation on deoxyribonucleic acid synthesis in the intact animal. *Radiat. Res.*, 24: 312-23 (1965)
73. Lowry, G.M.: additive cytotoxicity of 5-fluoro-uracil and γ -radiation on diploid cell strains. *Cancer Res.*, 531-95 (1965), Band 25
74. Maisin, H.: Chimiothérapie anticancéreuse et radiosensibilisation. *J. Belg. Radiolog.*, 46: 391-426 (1963)
75. Maisin, J.R.: Influence des radiosensibilisateurs et des radioprotecteurs sur la réponse des cancers à la radiothérapie. *Rev. Franc. Etud. Clin. Biol.*, 9: 437-455 (1964)
76. Mak, S., Till, J.E.: Use of I¹²⁵-labeled 5-iodo-2'-deoxyuridine for the measurement of DNS synthesis in mammalian cells in vitro. *Can. J. Biochem.*, 41: 2343-51 (1963)
77. Marquardt, H.: Die Schädigung von Zelle und Zellkern und ihre Bedeutung für einige Probleme der Tumorforschung.

In: Grundlage und Praxis chemischer Tumorbehandlung.
Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg, 1954

78. Martin, D.S., Kligerman, M.M., Fugmann, R.A.: Radiotherapy and adjuvant combination chemotherapy. 6-Amino-nicotine-acid and 6-mercaptopurine. *Cancer Res.*, 18: 893-6 (1958)
79. Mathias, A.P., Fischer, G.A., Prusoff, W.H.: Inhibition of the growth of mouse leukaemia cells in culture by 5-iododeoxyuridine. *Biochim. Biophys. Acta*, 35: 560-1 (1959)
80. Maurer, W.: Grundlagen und Technik des Arbeitens mit radioaktiven Isotopen. F. Autoradiographie. In: Handbuch der Neurochirurgie. Hrg. H. Olivecrona und W. Tönnis. Band 1. Springer, Berl.-Gött.-Heidelb., 1959
81. Maurer, W., Koburg, E.: Autoradiographische Untersuchungen mit H-3-Thymidin über den zeitlichen Verlauf der DNS-Synthese bei den Epithelien des Darms und bei anderen Zellarten der Maus. *Verh. Deutsch. Ges. Pathh.*, 45: 108-12 (1961)
82. März, K.: Autoradiographische Untersuchungen über den Einbau von 5-Iodo-2'-deoxyuridin-H³ in die Desoxyribonucleinsäure der Zellen der Wechselgewebe der weißen Maus. Inaugural-Dissertation, Freiburg 1965
83. Mitchell, J.S.: Clinical assessment of tetra-sodium 2-methyl-1:4-naphthohydroquinone diphosphate as radiosensitizer in radiotherapy of malignant tumors. *Brit. J. Cancer*, 7: 313-23 (1953)
84. Mitchell, J.S.: Laboratory studies of chemical radiosensitizers. *Ann. Rep. Brit. Imp. Cancer Camp.*, 32: 280-1 (1954)
85. Mohler, W.C., Elkind, M.M.: Radiation response of mammalian cells grown in culture. III. Modification of x-ray survival of Chinese hamster cells by 5-bromodeoxyuridine. *Exp. Cell Res.*, 30: 481-91 (1963)
86. Montagna, W., Wilson, J.W.: A cytological study of the intestinal epithelium of the mouse after total-body x-irradiation. *J. Nat. Cancer Inst.*, 15:1703-35 (1955)
87. Nygaard, O.F., Potter, R.L.: Effect of x-radiation on DNA

- metabolism in various tissues of the rat. Radiat. Res., 10: 462-76 (1959) und 12: 131-45 (1960)
88. Oehlert, W., Büchner, T.: Mechanismus und zeitlicher Ablauf der physiologischen Regeneration im mehrschichtigen Plattenepithel und in der Schäbimhaut des Magendarm-Traktes der weißen Maus. Beitr. Path. Anat., 125: 374-402 (1961)
 89. Oehlert, W., Magnusson, B.: Autoradiographische Untersuchungen zum Einbau von 5-Iodo-2'-desoxyuridin in die DNS der Zellen des Yoshida-Hepatoms AH 130. Z. Krebsforsch., 66: 455-9 (1965)
 90. Opara-Kubinska, Z., Lorkiewicz, Z., Szybalski, W.: Genetic transformation studies. II. Radiation sensitivity of halogen labeled DNA. Biochem. Biophys. Res. Comm., 4: 288-91 (1961)
 91. Ottoman, R.E.: Side-effects of combined radiation and chemotherapy in the treatment of malignant tumors. Radiology, 81: 1014-7 (1963)
 92. Painter, R.B., Robertson, J.S.: Effect of irradiation and the role of mitotic delay on the time course of labeling of HeLa 33H cells with tritiated thymidine. Radiation Res., 11: 206-17 (1959)
 93. Pelc, S.R., Howard, A.: Effect of various doses of x-rays on the number of cells synthesizing DNA. Radiation Res., 3: 135-42 (1955)
 94. Peters, K., Kraiss, W., Gärtner, H.: Über die alleinige und kombinierte Anwendung von Radium und Megaphen auf den Häuseascites-Tumor. Strahlentherapie, 97: 579-93 (1955)
 95. Peters, K., Stein, G.: Experimentelle Untersuchungen über die Wirkung von Co⁶⁰-Gammastrahlen und Trenimon (Tris-äthyleniminobenzochinon) - einzeln und in Kombination - auf den Kern und Nukleolus von Krebszellen (Stamm HeLa) in der Interphase in vitro. Strahlentherapie, 125: 258-72 (1964)
 96. Pilgrim, C.H., Maurer, W.: Autoradiographische Untersuchungen über die Konstanz der DNS-Verdopplungsdauer bei Zellarten von Maus und Ratte durch Doppelmarkierung mit 3H-Thymidin und 14C-Thymidin. Exp. Cell Res., 37: 183-99 (1965)

97. Polkina, R.I., Bichenkova, M.N., Zalesskaya, L.I.: (Attempts at radiosensibilisation of transplanted tumors with some pyrimidin derivatives.) *Probl. Onkol.*, 4: 102-6 (1962)
98. Prusoff, W.H.: Synthesis and biological activities of iododeoxyuridine, an analog of thymidine. *Biochim. Biophys. Acta*, 32: 295-6 (1959)
99. Prusoff, W.H.: Incorporation of iododeoxyuridine into deoxyribonucleic acid of mouse Ehrlich-ascites-tumor cells in vivo. *Biochim. Biophys. Acta*, 39: 327-31 (1960)
100. Prusoff, W.H.: Studies on the mechanism of action of 5-iododeoxyuridine, an analog of thymidine. *Cancer Res.*, 20: 92-5 (1960)
101. Prusoff, W.H.: A review of some aspects of iododeoxyuridine and azauridine. *Cancer Res.*, 23: 1246-59 (1963)
102. Prusoff, W.H., Jaffe, J.J., Günther, H.: Studies in the mouse of the pharmacology of 5-iododeoxyuridine, an analog of thymidine. *Biochem. Pharmacol.*, 3: 110-21 (1960)
103. Quastler, H.: Cell renewal and acute radiation damage. *Radiology*, 73: 161-5 (1959)
104. Quastler, H., Bensted, J.M.P., Lamerton, L.F., Simpson, S.M.: Adaption to continuous irradiation: observations on the rat intestine. *Brit. J. Radiol.*, 32: 501-12 (1959)
105. Quastler, H., Sherman, P.G.: Cell population kinetics in the intestinal epithelium of the mouse. *Exp. Cell Res.*, 17: 420-38 (1959)
106. Rotenberg, A.D., Bruce, W.R., Baker, R.G.: Incorporation of 5-iododeoxyuridine- I^{131} in spontaneous C3H mouse mammary tumors. *Brit. J. Radiol.*, 35: 337-42 (1962)
107. Schmermund, H.J., Schubert, G., Oberheuser, F.: Über die Kombinationswirkung von N-Oxydlost und Röntgenstrahlen auf das Yoshidasarkom der Ratte. *Strahlentherapie, Sonderband* 35, 180-2 (1956)
108. Schneider, R.: Beitrag zur Wirkungsweise einiger Zytostatika und ionisierender Strahlen. *Strahlentherapie*, 126: 213-35 und 339-65 (1965)
109. Schoeninger, E.L., Salerno, P.R., Friedell, H.L.: Studies

- on the combined effect of actinomycine D and x-radiation. *Radiology*, 79: 310-5 (1962)
- Sherman, F.G., Quastler, H.: DNA synthesis in irradiated intestinal epithelium. *Exp. Cell Res.*, 19: 343-60 (1960)
- Simon, E.H.: Effects of 5-bromodeoxyuridine on cell division and DNA replication in HeLa cells. *Exp. Cell Res.*, Suppl. 9: 263-9 (1963)
- Somers, C.L., Humphrey, R.M.: A chromosome study of radiation sensitization by 5-bromodeoxyuridine. *Exp. Cell Res.*, 30: 203-17 (1963)
- Straube, R.L., Patt, H.M., York, R.: Potentiation of tumour radiosensitivity. *Radiation Res.*, 9: 139 (1953)
- Szybalski, W.: Properties and applications of halogenated deoxyribonucleic acids. In: *The Molecular Basis of Neoplasia*. University of Texas Press, Austin, Texas, 1962. Zit.: E. Harbers 1964 (45)
- Szybalski, W.; Djordjevic, B.: Radiation sensitivity of chemically modified human cells. *Genetics*, 44: 540-1 (1959)
- Tanooka, H.: Direct and indirect inactivation of bacteriophage T6 containing halogenated DNA. *Radiation Res.*, 21: 26-35 (1964)
- Tarnowski, G.S., Bane, H.N., Conrad, J., Nickson, J.J., Stock, C.C., Sugiura, K.: Effects of combination of radiation and chemotherapeutic agents against experimental animal tumors. *Cancer Res.*, Suppl. 13: 225-45 (1958)
- Upton, A.C.: The nucleus of the cancer cell: effects of ionizing radiation. *Exp. Cell Res.*, Suppl. 9: 533-53 (1963)
- Velasco, H.A., Ross, C.M., Webster, J.H., Sokal, J.E., Stutzman, L., Ambrus, J.L.: Combined use of AB-132 (meturedapa, Furloc) and x-irradiation in the management of advanced bronchogenic carcinoma. *Cancer*, 17: 341-9 (1964)
- Wacker, A., Dellweg, H., Weinblum, D.: Über die strahlensensibilisierende Wirkung des 5-Bromuracils. *J. Molec. Biol.*, 3: 787-39 (1961)
- Welch, A.D., Jaffe, J.J., Cardoso, S.B., Finch, S.O., Calabresi, P., Liebow, A.A., Prusoff, W.H.: Studies on the

- pharmacology of 5-iododeoxyuridine in animals and man.
Proc. Am. Ass. Cancer Res., 3: 161 (1960)
122. Welch, A.D., Calabresi, P., Prusoff, W.R., Creasey, W.A.,
McCollum, W.: Recent studies with 5-iododeoxyuridine
(IUDR) and related compounds. Exp. Cell Res., Supp.
9: 479-84 (1963)
123. Whitmore, G.F., Stanners, C.P., Till, J.E., Gulyas, S.:
Nucleic acid synthesis and the division cycle in x-
irradiated L-strain mouse cells. Biochim. Biophys.
Acta, 47: 66-77 (1961)
124. Widner, W.R., Storer, J.B., Lushbaugh, C.C.: The use of
x-ray and nitrogen mustard to determine the mitotic
and intermitotic cycle-times in normal and malignant
rat tissues. Cancer Res., 11: 877-84 (1951)
125. Williams, R.B., Toal, J.N., White, J., Carpenter, H.M.:
Effect of total-body x radiation from near-threshold
to tissue-lethal doses on the small-bowel-epithelium
of the rat. J. Nat. Cancer Inst., 21: 17-61 (1958)
126. Zollinger, H.U.: Radiohistologie und Radio-Histopathologie.
In: Handbuch der Allgemeinen Pathologie, Hrsg. Büchner,
Letterer, Roulet. Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-
Heidelberg, 1960

Wir sind Herrn Prof. Dr. R. Koch für die radiologische Beratung,
Herrn Prof. Dr. Dr.h.c. H. Langendorff für die Erlaubnis der
Bestrahlung der Versuchstiere im Radiologischen Institut und
Herrn Dipl.-Math. K. Hinkelmann, Ph. D. für die statistische
Beratung und für die Berechnung unserer Ergebnisse zu großem
Dank verpflichtet.

Lebenslauf

Ich bin als Sohn von Rechtsanwalt Dr. Eberhard Strohm am 23. 9. 1941 in Danzig geboren. Auf der Flucht aus Danzig kam ich nach Oberschwaben, von dort nach Stuttgart-Bad Cannstatt. In Bad Cannstatt ging ich von 1948 an zur Schule und bestand nach 13 Schuljahren im Frühjahr 1961 das Abitur. Im Sommersemester 61 immatrikulierte ich mich an der Universität Heidelberg für das Fach Medizin. Dort legte ich nach zwei Semestern das Vorphysikum, nach drei weiteren Semestern im Sommer 63 das Physikum ab. Mit einem Stipendium im Rahmen des Studentenaustausches Heidelberg-Montpellier konnte ich im Wintersemester 63/64 in Montpellier studieren. Im darauffolgenden Semester schrieb ich mich in Freiburg ein, wo ich nach dem Wintersemester 66/67 das medizinische Staatsexamen ablegen möchte. Seit Februar 1966 bin ich mit Inge Strohm, geb. Wahl verheiratet.

